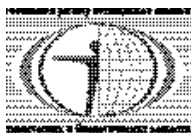


БЮЛЛЕТЕНЬ



Российского регистра потенциально
опасных химических
и биологических веществ

НОВЫЕ СВЕДЕНИЯ О ТОКСИЧНОСТИ И ОПАСНОСТИ ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

УДК 614.7

МИКРООРГАНИЗМ AZOTOBACTER. CHROOCOCCUM BH-1811 ВКПМ B-9029

Н.И. Шеина¹, Э.Г. Скрябина¹, Е.В. Буданова²,
Л.И. Мясина¹, Л.П. Сазонова¹, В.В. Колесникова¹,
Г.Г. Чуб¹

¹ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский
медицинский университет им. Н.И.Пирогова» МЗ РФ, 117997,
г. Москва, Российская Федерация

²ГБОУ ВПО ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный
медицинский университет имени И.М. Сеченова» МЗ РФ, 119991
г. Москва, Российская Федерация

Оценена опасность микроорганизма *Azotobacter. chroococcum* BH-1811 ВКПМ B-9029 для здоровья человека. Рекомендованы для утверждения ПДК_{р.з.} *A. chroococcum* BH-1811 ВКПМ B-9029 5×10^4 кл/м³, ПДК_{а.в.} – 5×10^3 кл/м³.

Ключевые слова: микроорганизм *Azotobacter. chroococcum* BH-1811 ВКПМ B-9029, опасность, ПДК_{р.з.}, ПДК_{а.в.}.

Штамм *Azotobacter chroococcum* BH-1811 выделен из почв Подмосквья, не является генетически модифицированным штаммом. Штамм продуцирует гетероауксин, антибиотики. Предполагается использовать в растениеводстве.

На среде Федорова штамм образует крупные, круглые, выпуклые, непрозрачные,

гладкие колонии с ровными краями. Через 18–20 ч при t 28–30°C наблюдаются мелкие полиморфные клетки. Через 48 ч роста наблюдаются мелкие палочки, которые могут располагаться парами. Эндоспор не бывает, но вырабатывают большое количество капсулярной слизи. Подвижны, имеют перитрихальные жгутики. Грамотрицательные,

Шеина Наталья Ивановна (Sheina Natalia Ivanovna), доктор биологических наук, доцент, профессор кафедры гигиены ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» МЗ РФ, 117997, г. Москва, ni_sheina@mail.ru

Скрябина Эмилия Григорьевна (Skryabina Emiliya Grigorievna), кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отдела медицинской химии и токсикологии ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» МЗ РФ, 117997, г. Москва, let@mail.ru

Буданова Елена Вячеславовна (Budanova Elena Vyacheslavovna), кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» МЗ РФ, 119991 г. Москва, e.v.budanova@mail.ru

Мясина Любовь Ивановна (Maylina Lyubov Ivanovna), кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры гигиены ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» МЗ РФ, 117997, г. Москва, gjea@rsmu.ru

Сазонова Любовь Павловна (Sazonova Lyubov Pavlovna), кандидат медицинских наук, старший преподаватель кафедры гигиены ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» МЗ РФ, 117997, г. Москва, gjea@rsmu.ru

Колесникова Валентина Васильевна (Kolesnikova Valentina Vasilievna), кандидат медицинских наук, старший преподаватель кафедры гигиены ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» МЗ РФ, 117997, г. Москва, gjea@rsmu.ru

Чуб Галина Георгиевна (Chub Galina Georgievna), кандидат медицинских наук, старший преподаватель кафедры гигиены ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» МЗ РФ, 117997, г. Москва, gjea@rsmu.ru

каталазоположительные. Не протеолитические, но могут использовать нитрат, аммиак и аминокислоты как источники азота, а крахмал и манит в качестве источников углеводов. Оптимальная температура роста – 28–30°C, оптимум pH – 6.5–7.0, время – 48 ч.

Штамм *Azotobacter chroococcum* ВН-1811 депонирован во Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов в 2005 г. под номером ВКПМ В–9029.

В процессе экспериментальных исследований были изучены патогенные свойства микроорганизма, влияние на интегральные показатели состояния организма и микрофлору кишечника, иммунотоксические свойства и возможность диссеминации его во внутренние органы с целью установления лимитирующего критерия вредного действия (ЛКВД) и обоснования ПДК_{р.з.} и ПДК_{а.в.}.

В соответствии с методическими рекомендациями «Критерии оценки патогенных свойств штаммов-продуцентов, предлагаемых для использования в промышленности микробиологического синтеза» (1992) для характеристики патогенных свойств штамма *A. chroococcum* ВН-1811 на мышах были определены следующие параметры: средневирulentная доза, «пороговая» доза, токсигенность и способность к диссеминации штамма в кровь и внутренние органы в течение 30 дней.

Показано, что при однократном внутрибрюшинном введении высоких доз микроорганизм не проявляет вирулентных свойств ($DV_{50} > 10^{10}$ кл/жив.). «Пороговая» доза микроорганизма в наших экспериментах составила 10^8 микробных клеток/жив. при однократном внутрибрюшинном введении штамма, что свидетельствует о невысокой инвазивности микроорганизма из брюшной полости в кровяное русло и не превышает допустимых значений, представленных в нормативных документах. В соответствии с методическими рекомендациями (1992г.) «пороговая» доза (Lim_{bact}) для непатогенных штаммов должна составлять более 10^7 кл/жив.

Токсигенные свойства штамма не были выявлены при введении чистого центрифугата и его 2-кратных разведений, т.е. токсигенность штамма-продуцента отсутствует (в соответствии с нормативными документами токсигенность для непатогенных микроорганизмов должна быть равна 0).

Результаты исследования способности к диссеминации изучаемого штамма показали, что *A. chroococcum* ВН-1811 обладает способностью к кратковременному персистиру-

ванию в организме теплокровных животных в течение 2 дней при однократном внутрибрюшинном введении больших доз микроорганизма, но не способен к диссеминации в крови и внутренних органах. На основании результатов проведенных экспериментальных исследований можно сделать вывод об отсутствии патогенных свойств изучаемого штамма-продуцента.

Раздражающее действие суспензии штамма (10^9 кл/мл) при однократном нанесении на слизистые оболочки глаз кролика также отсутствует.

Воздействие штамма в двух концентрациях (5×10^4 и 5×10^5 кл/м³) в течение 1 месяца не приводило к изменению интегральных показателей состояния организма экспериментальных животных, которое оценивалось нами по динамике массы тела в течение эксперимента и в восстановительном периоде (через 2 недели), а также по величине коэффициентов массы внутренних органов.

В результате изучения иммунотоксических свойств и сенсибилизирующей активности микроорганизма установлено, что коэффициенты массы иммунокомпетентных органов (тимус и селезенка) экспериментальных животных не отличались от таковых у животных контрольной группы. При воздействии большей концентрации микроорганизма обнаружено некоторое снижение относительного и абсолютного количества Т-лимфоцитов при достоверном повышении содержания В-лимфоцитов. Снижение и количества Т-лимфоцитов и увеличение В-лимфоцитов в периферической крови подопытных животных можно расценивать как результат влияния штамма на процессы миграции иммунокомпетентных клеток. Выявленное изменение баланса основных популяций Т- и В-лимфоцитов в сторону увеличения В-лимфоцитов может служить источником большей продукции антител реактивного типа, ответственных за формирование аллергической реакции немедленного типа.

При изучении сенсибилизирующей активности штамма в эксперименте на мышах не выявлено формирования гиперчувствительности замедленного типа, обусловленной клетками-эффекторами ГЗТ.

При оценке способности *A. chroococcum* ВН-1811 формировать аллергическую реакцию немедленного типа использована реакция прямой дегрануляции тучных клеток, которая оценивалась нами по комплексу показателей, включающего процент дегранулированных тучных клеток перитонеальной жидкости, показатель дегрануляции и ин-

тенсивность процесса дегрануляции. Однако тучноклеточная реакция немедленного типа (ГНТ) на крысах при воздействии обеих концентраций штамма не выявлена.

Исследуемый микроорганизм не проявляет антигенной активности при используемом методе исследования на изучаемых уровнях воздействия. Не обнаружено образования специфических антимикробных антител (агглютининов) в сыворотке подопытных животных обеих групп.

Иммуномодулирующая активность *A. chroococcum* ВН-1811 была оценена по гуморальному ответу на эритроциты барана. В экспериментах на крысах ответ на эритроциты барана, оцениваемого по титрам гуморальных антител-гемагглютининов, был аналогичен таковому в контрольной группе как по средним значениям, так и вариабельности показателя внутри группы. Таким образом, штамм-продуцент *A. chroococcum* ВН-1811 обладает слабо выраженным иммунотоксическим действием при воздействии в концентрации 5×10^5 кл/м³.

Бактериологические исследования микрофлоры кишечника показали, что на фоне хронического воздействия *A. chroococcum* ВН-1811 не происходит значимого изменения (дисбаланса) микробиоценоза кишечника крыс. Штамм не оказывает ощутимого

влияния на показатели анаэробной составляющей (бифидобактерии, лактобациллы) микробиоценоза кишечника. Коэффициент массы слепой кишки не различается у крыс контрольной и подопытных групп.

Воздействие микроорганизма в обеих концентрациях характеризуется изменением частоты высеваемости отдельных представителей условно-патогенной микрофлоры, что нивелируется в восстановительном периоде.

Штамм-продуцент при хроническом воздействии в обеих концентрациях не обладает способностью к диссеминации в кровь и внутренние органы (легкие, печень, почки, селезенка) экспериментальных животных ни через 1 месяц введения микроорганизма, ни через 2 недели восстановительного периода.

Анализ совокупности полученных экспериментальных данных свидетельствует о том, что «пороговым» уровнем воздействия в хроническом эксперименте является 5×10^5 кл/м³.

Заключение. На основании полученных данных установлено, что лимитирующим критерием вредного действия микроорганизма на организм теплокровных животных является слабо выраженный иммунотоксический эффект. Рекомендованы для утверждения ПДК_{п.з.} *A. chroococcum* ВН-1811 ВКПМ В-9029 5×10^4 кл/м³, ПДК_{а.в.} – 5×10^3 кл/м³.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- | | | |
|---|---|---|
| <p>1. Критерии оценки патогенных свойств штаммов-продуцентов, предлагаемых для использования в промышленности микробиологического синтеза. Мет. реком., РГМУ, М., 1992, 22 с.</p> | <p>2. Методические указания по экспериментальному обоснованию ПДК микроорганизмов-продуцентов и содержащих их готовых форм препаратов в объектах производственной и окружающей среды. №5789/1-91. М., 1991, 22 с.</p> | <p>3. Определитель бактерий Берджи. Под ред. Дж.Холта, Н.Крига, Дж.Снита и др. Изд-е 2-е. М.: Мир, 1997. 2 т.</p> |
|---|---|---|

REFERENCES:

- | | | |
|---|---|--|
| <p>1. Criteria of assessment the pathogenic properties of producer strains proposed for use in industrial microbiological synthesis. Methodical. recommendations, Medical University, Moscow, 1992, 22 p. (in Russian).</p> | <p>2. Guidelines on experimental justification of the limit permitted concentration of producing microorganisms and their containing strains products in industrial and environmental objects. №5789/1-91. - M., 1991., 22 p. (in Russian).</p> | <p>3. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Ninth Ed. J. G. Holt, N. R. Krieg, P.H.A. Sneath et al. M.: Mir, 1997. 2 v.</p> |
|---|---|--|

N.I. Sheina¹, E.G. Skryabina¹, E.V. Budanova², L.I. Myalina¹, L.P. Sazonova¹, V.V. Kolesnikova¹, G.G. Chub¹

MICROORGANISM AZOTOBACTER CHROOCOCCUM ВН-1811 ВКПМ В-9029

¹State Budgetary Educational Institution of Higher Professional Education «I.M. Sechenov Moscow State Medical University», 119991 Moscow, Russian Federation

²State Budgetary Educational Institution of Higher Professional Education «N.I. Pirogov Russian National Research Medical University», 117513, Moscow, Russian Federation

Hazard assessment of the microorganism *Azotobacter chroococcum* ВН-1811 ВКПМ В-9029 to human health was carried out. TLV/TWA_{working zone} of *A. chroococcum* ВН-1811 ВКПМ В-9029 equal to 5×10^4 cells/m³ and TLV/TWA_{atmospheric air} equal to 5×10^3 cells/m³ are recommended for approval.

Key words: *microorganism Azotobacter chroococcum ВН-1811 ВКПМ В-9029, hazard, TLV/TWA_{working zone}, TLV/TWA_{atmospheric air}*

Материал поступил в редакцию 12.11.2014 г.